

財団法人日中医学協会
2007年度共同研究等助成金－在留中国人研究者－報告書

2008 年 3 月 14 日

財団法人 日 中 医 学 協 会 御中

貴財団より助成金を受領して行った研究テーマについて報告いたします。

添付資料： 研究報告書

中国人研究者名： 孫 芳 

指導責任者名： 中西 敏雄 職名： 教授

所属機関名： 東京女子医科大学
国際統合医科学インスティテュート

〒 162-8666

所 在 地： 東京都新宿区河田町8-1

電話： 03-3353-8111 内線： 28482

1. 助 成 金 額： 600,000 円

2. 研 究 テ ー マ

小児肺高血圧症に対するシトルリン酸による治療に関する基礎的研究

3. 成 果 の 概 要 (100字程度)

本研究の目的は、小児肺高血圧のモデルをラットで作成することと、シトルリン酸の投与が肺高血圧の
治療に有効であるかを動物実験で検討することでした。前者の研究目的は達成しました。後者は未だ
検討が必要です。

4. 研 究 業 績

(1) 学会における発表

 無

・ 有 (学会名・演題)

(2) 発表した論文

 無

・ 有 (雑誌名・題名)

小児肺高血圧症に対するシトルリン酸による治療に関する基礎的研究

研究者氏名 孫 芳

中国所属機関 北京大学 第1病院小児科

日本研究期間 東京女子医科大学

国際統合医科学インスティテュート

指導責任者 教授 中西敏雄

要旨

肺高血圧症は、小児、成人をとわず、予後不良の疾患で、いまのところ完璧な治療法や薬剤は無いのが現状である。よりよい小児肺高血圧治療法の開発をめざす目的で本研究を開始した。アルギニンから一酸化窒素産生酵素により一酸化窒素が産生され、血管、とくに肺血管は弛緩する。シトルリン酸はアルギニンの前駆物質となりうるアミノ酸で、肺高血圧症の治療に有効である可能性がある。本研究の目的は、小児肺高血圧のモデルをラットで作成することと、シトルリン酸の投与が肺高血圧の治療に有効であるかを動物実験で検討することである。妊娠ラットを低酸素下に置き、生後も新生仔を低酸素下に置いて、肺高血圧ラットを作成した。また、モノクロタリンを新生仔ラットに投与して若年ラットの肺高血圧モデルを作成した。新生仔期から2ヶ月間シトルリン酸(100mg/kg)を腹腔内投与し、シトルリン酸が肺高血圧にあたえる影響を調べた。低酸素やモノクロタリンは肺内小動脈の内膜肥厚をもたらしたが、シトルリン酸はそれを防止できなかった。さらなるシトルリン酸投与法、投与量の検討が必要である。

Key Words 肺高血圧、小児、ラット、低酸素、モノクロタリン、シトルリン酸

緒言：

肺高血圧症は、小児、成人をとわず、予後不良の疾患である。原発性のものは100万人に1-2人の割合で発症し、小児が25%を占める。原発性肺高血圧以外に、先天性心疾患に合併した肺高血圧も小児で多くみられる。その治療には、Ca 受容体拮抗剤、シルデナフィル、ボセンタン、エボプロステノールなどが用いられてきた。しかし、それらの薬剤の効果は限定的なもので、副作用もありうるので、いまのところ完璧な治療法や薬剤は無いのが現状である。よりよい肺高血圧治療法の開発をめざす目的で本研究を開始した。

アルギニンから一酸化窒素産生酵素により一酸化窒素が産生され、血管、とくに肺血管は弛緩する。アルギニンの投与は一酸化窒素の産生を増加させ、血管拡張をきたすことが知られている。

しかし、アルギニンはあまりにも急激な血行動態の変化をきたすので、アルギニンによる肺高血圧の治療はヒトで実用化されるには至っていない。一方、シトルリン酸はアルギニンの前駆物質となりうるアミノ酸である。シトルリン酸の投与は、肺高血圧症の治療に有効である可能性がある。本研究の目的は、シトルリン酸の投与が肺高血圧の治療に有効であるかを動物実験で検討することである。

対象と方法:

1) 低酸素による肺高血圧の作成

若年ラットでの肺高血圧モデル動物の作成をおこなった。妊娠ラットを妊娠18日から低酸素飼育ボックスにて飼育した。酸素濃度は12-16%とした。低酸素状態のまま分娩させ、母親と新生仔を低酸素状態においた。そのまま、生後2ヶ月まで飼育した。生後2ヶ月の時点で屠殺し、肺動脈における内膜肥厚、中膜肥厚の有無について、組織検査をおこなった。

2) モノクロタリンによる肺高血圧の作成

生後2週の新生仔ラットにモノクロタリン(60mg/kg)を腹腔内投与し、生後2ヶ月まで飼育した。生後2ヶ月の時点で屠殺し、肺動脈における内膜肥厚、中膜肥厚の有無について、組織検査をおこなった。

3) 肺組織所見の観察

肺組織を Hematoxylin-Eosin で染色した。また、弾性線維を染色するため、Elastica van Gieson 染色も行った。

4) シトルリン酸投与の効果

新生仔期から2ヶ月間シトルリン酸(100mg/kg)を1週間に1回、腹腔内投与し、シトルリン酸が肺高血圧にあたえる影響を、組織所見から検討した。

結果:

1) 低酸素による肺高血圧の作成

若年ラットでの肺高血圧モデル動物の作成が可能であった。酸素濃度を12-16%とし、生後2ヶ月まで飼育し、生後2ヶ月の時点で組織検査をおこなうと、肺小動脈において内膜肥厚をみとめた。

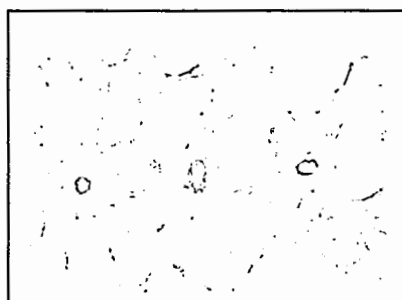
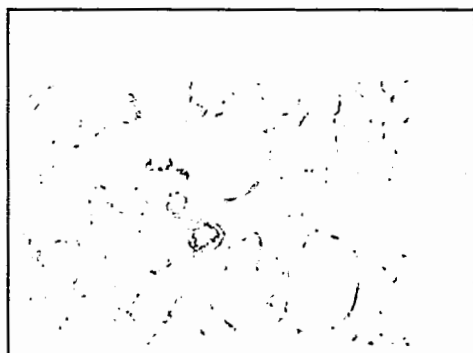


図1 (左図). 低酸素による内膜肥厚

図2 (右図). 低酸素による内膜肥厚

2) モノクロタリンによる肺高血圧の作成

生後2週の新生仔ラットにモノクロタリン(60mg/kg)を腹腔内投与し、生後2ヶ月まで飼育した。

生後2ヶ月の時点で屠殺し、組織検査をおこなった。肺小動脈において内膜肥厚を認めた。

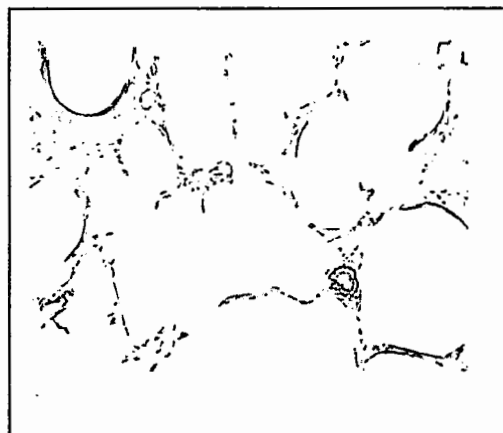


図3. モノクロタリンによる内膜肥厚

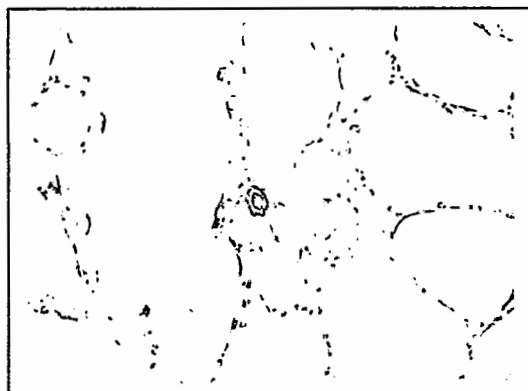


図4. モノクロタリンによる内膜肥厚

3) シトルリン酸投与の効果

シトルリン酸(100mg/kg)を1週間に1回、腹腔内投与し、シトルリン酸が肺高血圧にあたえる影響を、組織所見から検討した。この量のシトルリン酸では、内膜肥厚を防止できなかった。

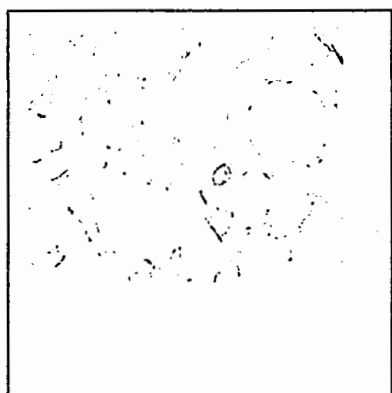


図5. 低酸素による内膜肥厚

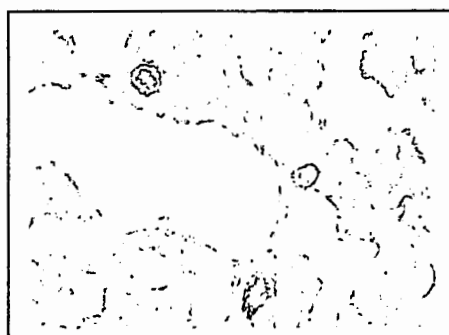


図6. モノクロタリンによる内膜肥厚

考察:

肺高血圧症は、小児、成人をとわず、予後不良の疾患である。現存の薬剤の効果は限定的なもので、副作用もありうる。一方、シトルリン酸はアルギニンの前駆物質となりうるアミノ酸で、正常に体内に存在する。シトルリン酸の投与は、安全で、且つ肺高血圧症の治療に有効である可能性がある。

肺高血圧の治療について研究するためには、よい動物モデルを作成する必要があった。本研究の第1の目的は、よい動物モデルを作成することであった。新生時期からの低酸素は、内膜肥厚

をもたらし、モノクロタリンと同じ程度の肺血管病変をもたらしした。モノクロタリンの新生仔投与も内膜肥厚をもたらしした。本研究では低酸素、モノクロタミンともに、若年ラット肺高血圧モデルの作成に有用であった。モノクロタミンは成獣ラットにおいては、肺高血圧をきたすことが知られており、多くの研究がある。しかし、新生仔—若年ラットにおける肺高血圧モデルはなく、本研究でいままでにない結果を得ることができた。

次に、シトルリン酸の投与が肺高血圧の治療に有効であるかを動物実験で検討した。シトルリン酸(100mg/kg)を1週間に1回、腹腔内投与し、シトルリン酸が肺高血圧にあたえる影響を、組織所見から検討したが、本研究では、この量のシトルリン酸では、内膜肥厚を防止できなかった。本研究は端緒に付いたばかりで、今後シトルリン酸の投与方法（静脈注射、経口投与など）や量（50, 100, 150 mg/kg）、投与頻度（隔日、毎日など）の検討を行っていかねばならない。

作成日 2008年3月10日